

10531155

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
25. Oktober 2001 (25.10.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 01/79241 A1

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C07H 13/06,  
15/04, A61K 31/70, A23L 1/09, 1/29, C12P 19/02, 19/44

[DE/DE]; Forellenweg 37, 40764 Langenfeld (DE).  
OTTO, Ralf [DE/DE]; Oedheimer Strasse 6, 74177 Bad  
Friedrichshall (DE). GEERS, Bernadette [DE/DE];  
Konkordiastrasse 60, 40219 Düsseldorf (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/04153

(22) Internationales Anmeldedatum:  
11. April 2001 (11.04.2001)

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AU, BG, BR, BY, CA,  
CN, CZ, DZ, HU, ID, IL, IN, JP, KR, MX, NO, NZ, PL,  
RO, RU, SG, SI, SK, UA, US, UZ, VN, YU, ZA.

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT,  
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, SE, TR).

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
100 19 255.6 18. April 2000 (18.04.2000) DE

Veröffentlicht:  
— mit internationalem Recherchenbericht  
— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden  
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen  
eintreffen

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF  
AKTIEN [DE/DE]; Henkelstrasse 67, 40589 Düsseldorf  
(DE).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WEISS, Albrecht

(54) Title: GLYCOSIDE ESTERS, THE PRODUCTION AND THE USE THEREOF IN COSMETICS, PHARMACEUTICAL  
PRODUCTS AND FOODSTUFF OR ANIMAL FEED

(54) Bezeichnung: GLYKOSID-ESTER UND IHRE HERSTELLUNG SOWIE VERWENDUNG IN KOSMETIKA, PHARMA-  
ZEUTIKA UND NAHRUNGS- BZW. FUTTERMITTELN

(57) Abstract: The invention relates to the compounds of the general formula (I):  $Ac_n-O-Z-O-R_m$  (I), wherein R represents hydrogen,  
a branched or straight-chain  $C_8-C_{20}$  alkyl group bound to the sugar moiety via an ether bridge, an arylalkyl group or a substituted  
or unsubstituted  $C_6-C_{10}$  aryl group, wherein Z (sugar) represents a monosaccharide, disaccharide or polysaccharide that is n-fold  
substituted by Ac in the manner of an ester, and, if R is not hydrogen, is acetally bound to the group R, wherein Ac is a poly-  
unsaturated  $C_{15}-C_{25}$  acyl group with at least 4 isolated and/or at least two conjugated double bonds or an arylaliphatic group with  
1-4 methylene groups between the ester group and the aromatic ring, wherein m is an integer (1, 2, 3, ...) including 0, wherein n  
is an integer (1, 2, 3, ...), but different from 0, with the proviso that  $Z-O-R_m$  does not represent salicin, that is 2-(hydroxymethyl-  
phenyl)- $\beta$ -glucopyranoside.

(57) Zusammenfassung: Verbindungen der allgemeinen Formel (I):  $Ac_n-O-Z-O-R_m$  (I), worin R einen Wasserstoff-, einen über eine  
Etherbrücke an den Zucker gebundenen verzweigten oder geradkettigen  $C_8-C_{20}$ -Alkyl-, einen Arylalkyl- oder einen substituierten  
oder unsubstituierten  $C_6-C_{10}$ -Arylrest darstellt, worin Z (Zucker) für ein Mono-, Disaccharid oder Polysaccharid steht, das n-fach  
esterartig mit Ac substituiert und, wenn R nicht für Wasserstoff steht, acetalisch an den Rest R gebunden ist, worin Ac einen mehr-  
fach ungesättigten  $C_{15}-C_{25}$ -Acylrest mit mindestens 4 isolierten und/oder mindestens zwei konjugierten Doppelbindungen oder einen  
arylaliphatischen Rest mit 1-4 Methylengruppen zwischen Ester-Gruppe und aromatischem Ring darstellt, worin m eine ganze Zahl  
(1, 2, 3, ...) einschließlich 0 ist, worin n eine ganze Zahl (1, 2, 3, ...), nicht aber 0, ist, mit der Maßgabe, daß  $Z-O-R_m$  nicht für Salicin,  
das ist 2-Hydroxymethyl-phenyl)- $\beta$ -glucopyranosid, steht.

WO 01/79241 A1

## **Glykosid-Ester und ihre Herstellung sowie Verwendung in Kosmetika, Pharmazeutika und Nahrungs- bzw. Futtermitteln**

5

Die vorliegende Erfindung betrifft neue, biologisch aktive Glykosid-Ester, Verfahren zu ihrer Herstellung, diese Verbindungen enthaltende kosmetische und/oder pharmazeutische Zubereitungen sowie diese Verbindungen enthaltende Nahrungs- und Futtermittel.

10

In der Kosmetik wird die Anwendung von Wirkstoffen immer wichtiger. Bei den Wirkstoffen, die bisher bereits Anwendung in der Kosmetik finden, handelt es sich nicht immer um Naturstoffe. Die Optimierung bekannter Wirkstoffe und die Herstellung neuer Wirkstoffe sind Gegenstand vieler Forschungsarbeiten.

15

Im weitesten Sinne sind Wirkstoffe solche Stoffe, die – in relativ kleinen Mengen vorkommend oder zugeführt – große physiologische Wirkung entfalten können. Hier ist an Hormone, Vitamine, Enzyme, Spurenelemente etc. zu denken, aber auch an Pharmaka (Arzneistoffe), Futterzusätze, Düngemittel und Schädlingsbekämpfungsmittel. Nicht selten kann man auch Synergismus beobachten.

20

### Glykoside und arylaliphatische Glykosidester

25

Die erfindungsgemäß durchgeführten Derivatisierungen erzielen eine verbesserte Wirkung sowie eine erhöhte Bioverfügbarkeit, wie es bereits früher am Beispiel von Salicinderivaten gezeigt wurde.

30

Viele natürlich vorkommende Alkyl- und Phenol-Glucoside zeigen antivirale, antimikrobielle und teilweise antiinflammatorische Wirkungen. Sie sind jedoch oft aufgrund ihrer Polarität wenig bioverfügbar bzw. ihre Selektivität ist zu gering. Beispielsweise ist Salicin (ein glykosidischer Wirkstoff aus der Weidenrinde) ein nichtsteroidales antiinflammatorisches Agens (NSAIA), das nach Derivatisierung (Veresterungen) deutlich verbesserte Wirksamkeit zeigt. Kürzlich gelang die Synthese neuer arylaliphatischer Salicinester wie Phenylaceto-yl-Salicin oder Phenylbutyro-yl-Salicin, wobei die Veresterung bevorzugt an den primären OH-Gruppen des Salicins

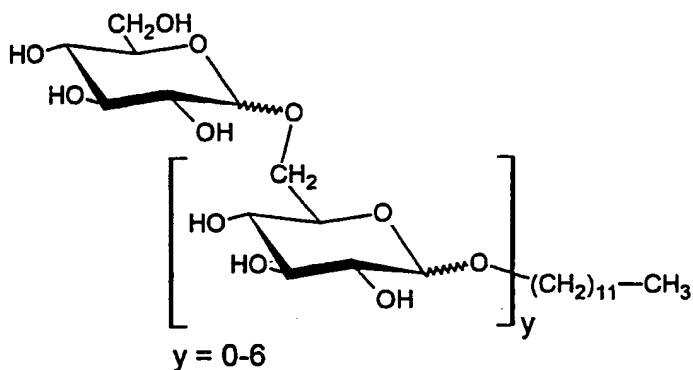
35

(zunächst am Zucker dann am Benzylrest) im Salicin erfolgte. Aufgrund des arylaliphatischen Restes wird der Stofftransport an den Wirkort verbessert und die Selektivität der Wirkung erhöht. So inhibieren diese Derivate im Gegensatz zu unmodifiziertem Salicin bevorzugt die Prostaglandinsynthase 2 (geringere Gefahr von Nebenwirkungen) (Ralf T. Otto, Biotechnologische Herstellung und Charakterisierung neuer pharmazeutisch aktiver Glykolipide, Dissertation (1999) ISBN 3-86186-258-1).

Darüberhinaus wurde aus Extrakten der Pflanzen der Spezies Ericaceae, z.B. aus der Bärentraube (*Arctostaphylos uva ursi* L.), das Glykosid Arbutin isoliert, welches hautaufhellende Wirkung zeigt. Dieses Glykosid hat ein gewisses biotechnologisches Interesse, da es in Japan wegen seiner aufhellenden Wirkung bedingt durch die Inhibierung der Melaninbiosynthese (Hemmung des Schlüsselenzyms Tyrosinase) in beträchtlicher Menge (1-2 t pro Jahr) in Kosmetika verwendet wird. Während im europäischen Markt die Präparate eher gegen Altersflecken, Leberflecken bzw. Sommersprossen eingesetzt werden, sollen im asiatischen Markt die Schönheitsideale einer hellen makellosen Haut durch ganzkörperliche Behandlung erreicht werden.

#### Alkylpolyglucoside (APG)

Alkylpolyglucoside (APG), werden als Phosphat-freie Neutraltenside u.a. Waschmitteln und Kosmetika zugesetzt (auf der Basis nachwachsender Rohstoffe). 1-7 Glucose-Einheiten sind glykosidisch mit einem Fettalkohol (zumeist 12 C-Atome) verknüpft:



#### PUFAs und CLAs

Natürliche Öle (z.B. aus Sonnenblumenöl, Leinöl, Ölbaumöl) mit einem hohen Anteil an polyungesättigten Fettsäuren (englisch: polyunsaturated fatty acids, PUFAs) werden in der Kosmetik und Dermatologie eingesetzt. Die PUFAs gehören in der Ernährung zu

der Gruppe der essentiellen Fettsäuren und zeigen zusätzlich eine positive Wirkung beim Einsatz in der Prophylaxe von Arteriosklerose. Daneben sind auch pharmazeutische Effekte von Bedeutung: Sie können antiinflammatorische (Hemmung der Prostaglandin- bzw. Leukotriensynthese), aber auch eine thrombolytische und  
5 hypotensive Wirkung aufweisen.

Erfindungsgemäß wird PUFA definiert als eine mehrfach ungesättigte Fettsäure mit 16 bis 26 C-Atomen, wobei die Fettsäure mindestens vier isolierte und/oder mindestens zwei konjugierte Doppelbindungen aufweist. Beispiele für PUFAs sind die insgesamt  
10 zwölf zur Linolsäure (cis, cis, 9,12-Octadecadiensäure) isomeren Octadecadiensäuren (die in der Natur vorkommen), die über konjugierte Doppelbindungen an den C-Atomen 9 und 11, 10 und 12, oder 11 und 13 verfügen.

Diese Isomeren der Linolsäure (z.B. cis, trans, 9,11-Octadecadiensäure, trans, cis, 10,12-Octadecadiensäure, cis, cis, 9,11-Octadecadiensäure, trans, cis, 9,11-Octadecadiensäure, trans, trans, 9,11-Octadecadiensäure, cis, cis, 10,12-Octadecadiensäure, cis, trans, 10,12-Octadecadiensäure, trans, trans, 10,12-Octadecadiensäure) lassen sich auf herkömmlichem Wege mittels chemischer Isomerisierung der Linolsäure herstellen, wobei diese Reaktionen in Abhängigkeit der  
20 Reaktionsbedingungen ausschließlich zu CLA-Gemischen unterschiedlichster Zusammensetzung führen (z.B. Edenor UKD 6010, Henkel KGaA).

Aufgrund ihrer konjugierten Doppelbindungen werden diese isomeren Octadecadiensäuren auch als "*conjugated linoleic acids*" (CLAs) bezeichnet.  
25 Natürlicherweise erhält man sie als Gemisch hauptsächlich aus Milch und Fleisch von Wiederkäuern (5 mg/g Fett), in denen sie durch das Pansenbakterium *Butyrivibrio fibrisolvens* synthetisiert werden.

Die Wirkung der CLAs ist sehr vielseitig. Sie zeigen hemmende Wirkung bei der  
30 Karzinogenese und bei der Artherogenese. Sie zeigen weiterhin eine antioxidative Wirkung durch Furanbildung, die bei der Prävention von Krebs und koronaren Herzkrankheiten (KHKen) eine wichtige Rolle spielt. Die Vermehrung der Muskel- und Knochenmasse durch Fettdepot-reduzierende Eigenschaften führt zu einer gesteigerten Nahrungsverwertung und findet Anwendung im Bereich der

Nahrungsmittel- und der Futtermittelindustrie. Dieser Effekt kann auf eine gesteigerte Fettsäure-Oxidation in Muskel- und Fettzellen zurückgeführt werden.

Eine weitere Anwendung dieser CLAs als Isomerengemisch folgt aus ihrer kompetenten  
5 Wirkung als antiinflammatorische Agenzien, da sie aufgrund ihrer strukturellen  
Verwandschaft zur Arachidonsäure, dem Vorläufer des Entzündungsmediators  
Prostaglandin, die zur Biosynthese der Prostaglandine benötigten Desaturasen  
kompetitiv hemmen können. Sie verdrängen zusätzlich die Vorläufer Arachidon- und  
Eicosansäure aus den Phospholipiden und hemmen die Umwandlung der  
10 Arachidonsäure in die Eicosansäure und damit die Umwandlung in die Prostaglandine.

Obwohl in der Literatur bereits zahlreiche pharmakologisch wirksame Stoffe  
beschrieben sind, die beispielsweise in die Entzündungskaskade eingreifen, besteht  
weiterhin ein Bedarf an besser wirksamen, an Nebenwirkungen armen Wirkstoffen.  
15 Weiter besteht ein Bedarf an Wirkstoffen mit einer guten Resorbierbarkeit und einer  
schnellen Penetration in die Haut, die zudem gut in pharmazeutische oder kosmetische  
Formulierungen einarbeitbar sein müssen.

Die Aufgabe, die der vorliegenden Erfindung zugrunde liegt, bestand also darin, solche  
20 nebenwirkungsarmen, gut wirkenden und gut zu verarbeitenden und zu applizierenden  
Substanzen bereitzustellen.

Glykoside und bestimmte Glykosidester sind z.B. aus der Natur bekannt. Nicht bekannt  
(weder aus Pflanzen, Mikroorganismen oder tierischen Zellen noch synthetisch  
25 hergestellt) sind hingegen die hier beschriebenen Ester, insbesondere PUFA- und CLA-  
Ester, von ungesättigten Fettsäuren mit Zuckern oder Glykosiden, bei denen  
mindestens eine der Hydroxylgruppen des Zuckers mit einer (ungesättigten) Carbon-  
bzw. Fettsäure verestert ist.

30 Überraschenderweise wurde von den Erfindern gefunden, daß bestimmte Ester,  
insbesondere Ester von ungesättigten Fettsäuren mit Zuckern oder Glykosiden eine  
gegenüber den bekannten Einzelkomponenten (Fettsäure bzw. Zucker/Glykosid)  
verbesserte biologische Verfügbarkeit, verstärkte Wirkung und/oder ein verbreitertes  
Wirkspektrum aufweisen. Vorzugsweise erfolgt die Esterbildung mittels der primären

Hydroxylgruppe des Zuckers/Glykosids; jedoch können auch die übrigen OH-Gruppen am Zucker oder eventuell vorhandene OH-Gruppen im Aglykon (z.B. Hydroxyrest im Fall des Arbutins) zur Veresterung verwendet werden.

- 5 Durch die Bereitstellung der Verbindungen der vorliegenden Erfindung konnten die Erfinder die gestellte Aufgabe lösen.

Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind Ester der allgemeinen Formel (I):

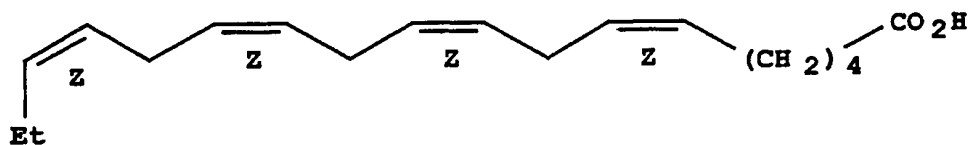


- 10 worin R einen Wasserstoff-, einen über eine Etherbrücke an den Zucker gebundenen verzweigten oder geradkettigen  $\text{C}_8\text{-C}_{20}$ -Alkyl-, einen Arylalkyl- oder einen substituierten oder unsubstituierten  $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ -Arylrest darstellt,

worin Z (Zucker) für ein Mono-, Disaccharid oder Polysaccharid steht, das n-fach esterartig mit Ac substituiert und, wenn R nicht für Wasserstoff steht, acetalisch an den Rest R gebunden ist,

- 15 worin Ac einen mehrfach ungesättigten  $\text{C}_{15} - \text{C}_{25}$ -Acylrest mit mindestens 4 isolierten und/oder mindestens zwei konjugierten Doppelbindungen oder einen arylaliphatischen Rest mit 1-4 Methylengruppen zwischen Ester-Gruppe und aromatischem Ring darstellt, worin m eine ganze Zahl (1, 2, 3, ...) einschließlich 0 ist, worin n eine ganze Zahl (1, 2, 3, ...), nicht aber 0, ist,
- 20 mit der Maßgabe, daß  $\text{Z-O-R}_m$  nicht für Salicin, das ist 2-Hydroxymethyl-phenyl)- $\beta$ -glucopyranosid, steht.

- Bevorzugt als Fettsäuren sind CLAs und Stearidonsäure, besonders bevorzugt die Octadecadiensäuren, die über konjugierte Doppelbindungen an den C-Atomen 9 und 11, 10 und 12 oder 11 und 13 verfügen, insbesondere die cis, trans, 9, 11- und die cis, 25 cis, 9, 11-Octadecadiensäure.



Stearidonsäure (CAS 20290-75-9); 6,9,12,15-Octadecatetraenoic acid, (6Z,9Z,12Z,15Z)- (9CI)

Als Zucker kommen Mono-, Di- und Oligosaccharide, insbesondere D-Glucose, D-Galactose, D-Xylose, D-Apiose, L-Rhamnose, L-Arabinose und Rutinose, in Betracht, wobei D-Glucose besonders bevorzugt ist.

5 Als Glykoside ( $Z-O-R_m$ ) kommen als Zuckerbestandteil Monosaccharide (wie die im vorhergehenden Absatz genannten) enthaltende Verbindungen, insbesondere Arbutin, Fragilin und Populin, aber auch Oligo- oder Polysaccharide enthaltende Glykoside wie Alkylpoly-glucoside, speziell APG (Henkel KGaA), in Betracht.

10 Geeignet im Sinne der Erfindung sind Verbindungen, bei denen der Glykosid-Anteil ( $Z-O-R_m$ ) Arbutin (d.h.  $m = 1$ ), Ac der Acylrest der cis, trans, 9, 11- oder der cis, cis, 9, 11-Octadecadiensäure und  $n = 1$  ist. Gleichfalls geeignet sind solche Verbindungen, bei denen der Glykosid-Anteil ( $Z-O-R_m$ ) Fragilin (d.h.  $m = 1$ ), Ac der Acylrest der cis, trans, 9, 11- oder der cis, cis, 9, 11-Octadecadiensäure und  $n = 1$  ist.

15

Andere vorteilhafte Verbindungen sind Ester, wobei der Glykosid-Anteil ( $Z-O-R_m$ ) Arbutin (d.h.  $m = 1$ ), Ac der Acylrest der cis, trans, 9, 11- oder der cis, cis, 9, 11-Octadecadiensäure und  $n = 2$  ist; Ester, wobei der Glykosid-Anteil ( $Z-O-R_m$ ) Fragilin (d.h.  $m = 1$ ), Ac der Acylrest der cis, trans, 9, 11- oder der cis, cis, 9, 11-Octadecadiensäure und  $n = 2$  ist; Verbindungen, bei denen der Glykosid-Anteil ( $Z-O-R_m$ ) Arbutin oder Fragilin (d.h.  $m = 1$ ), Ac der Acylrest der Stearidonsäure und  $n = 1$  ist; schließlich Verbindungen, wobei der Glykosid-Anteil ( $Z-O-R_m$ ) Arbutin oder Fragilin (d.h.  $m = 1$ ), Ac der Acylrest der Stearidonsäure und  $n = 2$  ist.

20

25 Andere vorteilhafte Verbindungen sind Ester mit folgenden Parametern: wenn  $n = 1$ , ist der einzige Rest Ac an eine primäre OH-Gruppe des Zuckers gebunden, insbesondere an diejenige primäre OH-Gruppe, die an der Zuckereinheit sitzt, an den auch R gebunden ist, wenn  $m \neq 0$ ; wenn  $n = 2$ , ist ein Rest Ac an diejenige primäre OH-Gruppe, die an der Zuckereinheit sitzt, an den auch R gebunden ist, wenn  $m \neq 0$ , und der andere  
30 Rest Ac ist an eine weitere primäre oder an eine sekundäre OH-Gruppe des Zuckers gebunden.

Besonders bevorzugte Verbindungen gemäß der vorliegenden Erfindung sind die folgenden Ester 1 bis 30, bei denen sowohl  $m$  als auch  $n = 1$  sind, bei denen Ac, Z und R

die folgenden Bedeutungen haben und bei denen die Estergruppe über die primäre Alkoholgruppe des Zuckers/Glykosids gebildet wird (sind mehrere Glucose- bzw. Zucker-Einheiten vorhanden, liegt die Veresterung am primären OH der Glucose-Einheit vor, die auch glykosidisch verknüpft ist mit z.B.  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_2\text{OH}$ ):

- 5 1. Ac ist cis, trans, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist D-Glucose; ist H;
2. Ac ist cis, cis, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist D-Glucose; R ist H;
3. Ac ist trans, cis, 10,12-Octadecadienoyl; Z ist D-Glucose; R ist H;
4. Ac ist cis, trans, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist D-Glucose; R ist  $-\text{para-C}_6\text{H}_4\text{-OH}$ ;
5. Ac ist cis, cis, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist D-Glucose; R ist  $-\text{para-C}_6\text{H}_4\text{-OH}$ ;
- 10 6. Ac ist trans, cis, 10,12-Octadecadienoyl; Z ist D-Glucose; R ist  $-\text{para-C}_6\text{H}_4\text{-OH}$ ;
7. Ac ist cis, trans, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist D-Glucose; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
8. Ac ist cis, cis, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist D-Glucose; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
9. Ac ist trans, cis, 10,12-Octadecadienoyl; Z ist D-Glucose; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
10. Ac ist cis, trans, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>2</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
- 15 11. Ac ist cis, cis, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>2</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
12. Ac ist trans, cis, 10,12-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>2</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
13. Ac ist cis, trans, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>3</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
14. Ac ist cis, cis, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>3</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
15. Ac ist trans, cis, 10,12-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>3</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
- 20 16. Ac ist cis, trans, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>4</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
17. Ac ist cis, cis, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>4</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
18. Ac ist trans, cis, 10,12-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>4</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
19. Ac ist cis, trans, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>5</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
20. Ac ist cis, cis, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>5</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
- 25 21. Ac ist trans, cis, 10,12-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>5</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
22. Ac ist cis, trans, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>6</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
23. Ac ist cis, cis, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>6</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
24. Ac ist trans, cis, 10,12-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>6</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
25. Ac ist cis, trans, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>7</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
- 30 26. Ac ist cis, cis, 9,11-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>7</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
27. Ac ist trans, cis, 10,12-Octadecadienoyl; Z ist (D-Glucose)<sub>7</sub>; R ist  $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ ;
28. Ac ist 6,9,12,15-Octadecatetraenoyl (6Z,9Z,12Z,15Z); Z ist D-Glucose; R ist H;
29. Ac ist 6,9,12,15-Octadecatetraenoyl (6Z,9Z,12Z,15Z); Z ist D-Glucose; R ist  $-\text{p-C}_6\text{H}_4\text{-OH}$ ;



30.Ac ist 6,9,12,15-Octadecatetraenoyl (6Z,9Z,12Z,15Z); Z ist D-Glucose; und R ist  $(CH_2)_{11}CH_3$ .

Weitere bevorzugte Verbindungen sind die Ester 31 bis 60, die sich von den Estern 1 bis 30 lediglich dadurch unterscheiden, daß die Zuckereinheit(en) nicht aus D-Glucose, sondern aus der entsprechenden Anzahl von D-Galactose-Einheiten besteht. Der Ester 54 ist also, um ein Beispiel zu geben, ein Analogon zum Ester 24 und somit ein Ester, bei dem Ac trans, cis, 10,12-Octadecadienoyl; Z (D-Galactose)<sub>6</sub>; R  $(CH_2)_{11}CH_3$ ; m und n 1 sind.

Bevorzugt sind auch die folgenden Ester 61 bis 120 in Analogie zu den Estern 1 bis 60, die sich allerdings von letzteren dadurch unterscheiden, daß n = 2 und daß der zweite Ac-Rest am 4-OH der Glucose- bzw. Galactose-Einheit sitzt.

Weiterhin bevorzugt sind die folgenden Ester 121 bis 180 in Analogie zu den Estern 61 bis 120, die sich allerdings von letzteren dadurch unterscheiden, daß der zweite Ac-Rest nicht am 4-OH, sondern am 1-OH der Glucose- bzw. Galactose-Einheit sitzt.

Ebenfalls bevorzugt sind die folgenden Ester 181 bis 240 in Analogie zu den Estern 121 bis 180, die sich allerdings von letzteren dadurch unterscheiden, daß der zweite Ac-Rest nicht am 1-OH, sondern am 2-OH der Glucose- bzw. Galactose-Einheit sitzt.

Weitere bevorzugte Ester sind die folgenden Ester 241 bis 300 in Analogie zu den Estern 1 bis 60, die sich allerdings von letzteren dadurch unterscheiden, daß n = 3 und daß diese Verknüpfungen an der primären (6-OH-) sowie der 1-OH- und der 4-OH-Gruppe des Zuckers erfolgen.

Andere bevorzugte Ester sind die folgenden Ester 301 bis 360 in Analogie zu den Estern 241 bis 300, die sich allerdings von letzteren dadurch unterscheiden, daß die drei Ac-Reste an der primären sowie der 2-OH- und der 4-OH-Gruppe des Zuckers gebunden sind.

Wiederum andere bevorzugte Ester sind die folgenden Ester 361 bis 420 in Analogie zu den Estern 1 bis 60, die sich allerdings von letzteren dadurch unterscheiden, daß n = 4 und daß diese Verknüpfungen an der primären (6-OH-) sowie der 1-OH-, der 2-OH- und der 4-OH-Gruppe des Zuckers erfolgen.

Durch die erfindungsgemäße Modifikation der Fettsäuren, d.h. durch die oben beschriebene Derivatisierung der Fettsäuren in Form der Verbindungen der vorliegenden Erfindung, wird die Verträglichkeit sowie die biologische Verfügbarkeit und Wirkung derartiger Fettsäuren für den Einsatz in Kosmetik, Pharmazie und/oder Ernährung verbessert.

Dementsprechend betreffen weitere Aspekte der vorliegenden Erfindung die Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zur Herstellung von kosmetischen und pharmazeutischen Zubereitungen, ihre Verwendung als Additive zu Nahrungs-, Nahrungsergänzungs- und Futtermitteln. Weitere Aspekte der vorliegenden Erfindung betreffen pharmazeutische und kosmetische Zubereitungen sowie Nahrungs-, Nahrungsergänzungs- und Futtermittel, die wenigstens eine Verbindung der allgemeinen Formel (I) enthalten.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist demnach ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (I), das dadurch gekennzeichnet ist, daß ein Zucker Z bzw. ein Glykosid Z-O-R<sub>m</sub> mit einer ungesättigten Fettsäure AcOH oder mit einem Ester, vorzugsweise einem Methyl- oder Ethylester, dieser Fettsäuren AcOH in Gegenwart einer Lipase verestert wird.

Zu den geeigneten enzymatischen Katalysatoren zur Veresterung (mittels Umesterung) der genannten Säuren und Alkoholkomponenten zählen die Hydrolasen, speziell die Lipasen wie die Lipasen aus *Candida antarctica*, *Candida rugosa* (ehemals *Candida cylindracea*), *Geotrichum candidum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium roqueforti*, *Rhizopus arrhizus* und *Mucor miehei*.

Eine bevorzugte Lipase ist die Lipase (Isoenzym B) aus *Candida antarctica*, wofür es zwei Gründe gibt. Erstens zeigt sie eine besonders hohe Selektivität bei der Veresterung der Acetale mit den ungesättigten Fettsäuren, obwohl diese nicht zu ihren typischen Substraten zählen. Des weiteren zeigt sie keine Grenzflächenaktivierung (ein entscheidendes Merkmal zur Klassifizierung von Hydrolasen in die Gruppe der Lipasen), da ihr ein wichtiges Lipasestrukturmerkmal, eine bewegliche Peptidkette am aktiven Zentrum (sog. *lid*) fehlt.

Es wird also die selektive Veresterungseigenschaften einiger Enzyme (siehe Beschreibung), insbesondere Lipase aus *Candida antarctica* Isoenzym B, dazu genutzt, Wirksubstanzen miteinander zu verestern und so die Wirkungen zu verknüpfen und teilweise zu verbessern und gleichzeitig eine Möglichkeit zu haben, das aktivste Isomer  
5 der CLAs aus dem Gemisch zu isolieren.

Gerade die gezielte Veresterung ist aber für die biologische Verfügbarkeit und Verträglichkeit der erfindungsgemäßen Substanzen entscheidend. Die chemische Synthese führt jedoch aufgrund mangelnder Regioselektivität zu groben  
10 Produktgemischen. Daher ist die hier beschriebene enzymatische (siehe Beispiele) milde und regioselektive Synthese von Vorteil. Erfindungsgemäß bedeutet regiospezifisch, daß nur eine bestimmte OH-Gruppe eines Polyols verestert wird. Entsprechend bedeutet regioselektiv, daß eine bestimmte OH-Gruppe eines Polyols bevorzugt, aber nicht ausschließlich, verestert wird.

15 Sind die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (I) erst einmal mittels des erfindungsgemäßen Verfahrens hergestellt worden, muß in aller Regel ein Verfahren folgen, um die gewünschte(n) Verbindung(en) aufzureinigen. Somit besteht ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung darin, ein Verfahren zur Aufreinigung der  
20 Verbindungen der Formel (I) bereitzustellen, das dadurch gekennzeichnet ist, daß es sich um ein wäßriges Zweiphasen-Extraktionsverfahren mit organischen Lösungsmitteln handelt, mit dem die Zielverbindung selektiv von den nicht umgesetzten Fettsäuren getrennt werden kann. Vorzugsweise handelt es sich bei dem organischen Lösungsmittel um n-Hexan, Cyclohexan, THF, Diethylether. Alternativ kann die  
25 Aufreinigung auch durch ein chromatographisches Verfahren an Kieselgel, vorzugsweise mit Ethylacetat/Methanol- oder Dichlormethan/Methanol-Gemischen mit geringen Anteilen Essigsäure und/oder Wasser erfolgen, das auch zusätzlich zu einem wäßrigen Zweiphasen-Extraktionsverfahren mit organischen Lösungsmitteln durchgeführt werden kann.

30 Da die erfindungsgemäßen Ester der Formel (I) eine gute biologische Verfügbarkeit und Wirkung haben, lassen sie sich in kosmetischen und pharmazeutischen Zubereitungen und/oder als Nahrungsmittel-Zusatzstoffe verwenden mit dem Ergebnis, daß die Qualität ebendieser Produkte deutlich verbessert wird.

Die erfindungsgemäßen Ester der konjugierten Linolsäuren (CLAs) weisen eine antiinflammatorische, antipyretische, antiphlogistische und/oder analgetische Wirkung auf und haben überdies auch antioxidative, hautaufhellende oder antibakterielle/antivirale Effekte. Die Fettdepot-reduzierende Wirkung der CLAs zeigt sich ebenfalls in den erfindungsgemäßen Verbindungen.

Da die Verbindungen der Formel (I) eine gute biologische Verfügbarkeit und Wirkung haben, lassen sie sich in kosmetischen und pharmazeutischen Zubereitungen und/oder als Nahrungsmittel-Zusatzstoffe verwenden mit dem Ergebnis, daß die Qualität ebendieser Produkte deutlich verbessert wird.

Darüber hinaus sind die erfindungsgemäßen Verbindungen besonders gut in lipophile Basis-rezepturen einarbeitbar und lassen sich auf einfache Weise als stabile Emulsionen formulieren.

Dementsprechend werden die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (I) zur Herstellung von kosmetischen und/oder pharmazeutischen Zubereitungen und/oder Nahrungs- bzw. Futtermitteln verwendet.

Weitere Gegenstände der Erfindung sind danach die Verwendung der Verbindungen der Formel (I) zur Herstellung von kosmetischen und/oder pharmazeutischen Zubereitungen; die Verwendung als Nahrungsergänzungs- oder -zusatzstoffe in Nahrungszubereitungen und in Futtermitteln (z.B. für die Tierzucht); kosmetische und pharmazeutische Zubereitungen sowie Nahrungsmittel/-zubereitungen und Futtermittel, die (eine) Verbindung(en) der Formel (I) enthalten.

Die unter erfindungsgemäßer Verwendung der Verbindungen (I) erhältlichen kosmetischen Zubereitungen wie Haarshampoos, Haarlotionen, Schaumbäder, Duschbäder, Cremes, Gele, Lo-tionen, alkoholische und wäßrig/alkoholische Lösungen, Emulsionen, Wachs/Fett-Massen, Stift-präparate, Puder oder Salben, können ferner als weitere Hilfs- und Zusatzstoffe milde Tenside, Ölkörper, Emulgatoren, Überfettungsmittel, Perlglanzwachse, Konsistenzgeber, Verdickungsmittel, Polymere, Siliconverbindungen, Fette, Wachse, Stabilisatoren, biogene Wirkstoffe, Deo-wirkstoffe,

Antischuppenmittel, Filmbildner, Quellmittel, UV-Lichtschutzfaktoren, Antioxidantien, Hydrotrope, Konservierungsmittel, Insektenrepellentien, Selbstbräuner, Solubilisatoren, Parfümöle, Farbstoffe, keimhemmende Mittel und dergleichen enthalten.

- 5 Die Einsatzmenge der erfindungsgemäßen Verbindungen in den kosmetischen Zubereitungen liegt üblicherweise im Bereich von 0,01 bis 5 Gew.-%, vorzugsweise jedoch von 0,1 bis 1 Gew.-% bezogen auf die Gesamtmenge der Zubereitungen.

10 Zur Herstellung pharmazeutischer oder auch kosmetischer Zubereitungen lassen sich die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I), gegebenenfalls in Kombination mit anderen Wirksubstanzen, zusammen mit einem oder mehreren inerten üblichen Trägerstoffen und/oder Verdünnungsmitteln, z. B. mit Maisstärke, Milchzucker, Rohrzucker, mikrokristalliner Cellulose, Magnesiumstearat, Polyvinylpyrrolidon, Zitronensäure, Weinsäure, Wasser, Wasser/Ethanol, 15 Wasser/Glycerin, Wasser/Sorbit, Wasser/Polyethylenglykol, Propylenglykol, Carboxymethylcellulose oder fetthaltigen Substanzen wie Hartfett oder deren geeigneten Gemischen, in übliche galenische Zubereitungen wie Tabletten, Dragees, Kapseln, Pulver, Suspensionen, Tropfen, Ampullen, Säfte oder Zäpfchen einarbeiten.

- 20 Die zur Erzielung einer entsprechenden Wirkung bei pharmazeutischen Anwendungen erforderliche tägliche Dosierung beträgt zweckmäßigerweise 0,1 bis 10 mg/kg Körpergewicht, vorzugsweise 0,5 bis 2 mg/kg Körpergewicht.

Die unter erfindungsgemäßer Verwendung der Verbindungen der Formel (I) erhältlichen 25 Nahrungersatz- und -zusatzstoffe wie Sportler-Drinks enthalten geeigneterweise die Verbindung(en) der Formel (I) in einer Menge, die bei einem üblichen Bedarf an Flüssigkeitsaufnahme von 1 bis 5 Litern pro Tag zu einer Dosierung dieser Verbindungen von an 0,1 bis 10 mg, vorzugsweise 0,5 bis 5 mg, pro kg Körpergewicht führt. Eine beispielhafte Verwendung in der Nahrungsmittelindustrie besteht für die 30 Verbindungen der Formel (I) als Färb- und/oder Gewürzstoffe.

**Beispiele****Beispiel 1:** CLA + Glucose**6-O-cis-9,trans-11-Octadecadienoyl-D-glucopyranose**

5 19.8 g (0.1 mol) D-(+)-Glucose, 39.6 g CLA (60% konjugierte Linolsäure) (Edenor UKD 6010), 30 g Molekularsieb, 120 ml t-Butanol und 3 g immobilisierte Lipase B aus *Candida antarctica* wurden 48 Stunden bei 60 °C mit 400 rpm am Magnetprüher im 300 ml Erlenmeyerkolben inkubiert. Die Umsetzung wurde mittels Dünnschichtchromatographie (Kieselgel 60-Platten mit Fluoreszenzindikator; Laufmittel: Ethylacetat/Methanol 10:1, v/v und Dichlormethan/Methanol/Essigsäure 95:5:0.1, v/v/v; 10 Visualisierung: UV-Detektion sowie mittels eines Essigsäure/Schwefelsäure/Anisaldehyd-Tauchreagenz (100:2:1, v/v/v)) nachgewiesen. Das Produkt wurde mit 300 ml THF extrahiert und über Säulenchromatographie (Kieselgel F60; Laufmittel: Ethylacetat/Methanol 10:1, v/v) gereinigt. Nach Reinigung betrug die 15 Ausbeute 43 g (37.3 %) (hochviskoses Produkt). Das Verhältnis von cis-trans-Isomer zu cis-cis-Isomer beträgt 1:0.4.

R<sub>F</sub>-Wert: 0.41 (Ethylacetat/Methanol 10:1)

0.05 (Dichlormethan/Methanol/Essigsäure 95:5:0.1)

13C-NMR (100.6 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ = (cis-trans-Isomer) 14.4 (C-18), 23.8 (C-17), 25.8 (C- 20 3) 28.0 (C-8), 30.1-30.7 (C-4, C-5, C-6, C-7, C-14, C-15, C-16), 32.8 (C-13), 34.6 (C-2), 64.8 (C-6'), 70.4 (C-4'), 71.8 (C-5'), 73.8 (C-2'), 74.9 (C-3'), 93.8 (C-1'), 129.7 (C-10), 130.2 (C-11), 130.5 (C-12), 131.6 (C-9), 173.6 (C-1).

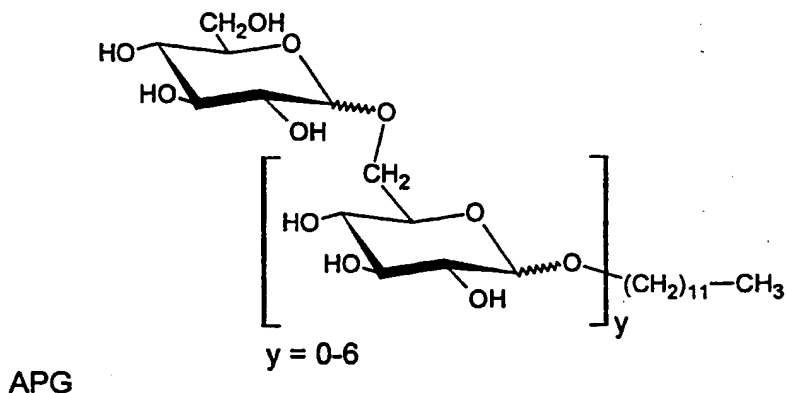
δ = (cis-cis Isomer) 14.4 (C-18), 23.8 (C-17), 25.6 (C-3) 30.1-30.7 (C-4, C-5, C-6, C-7, C-14, C-15, C-16), 32.6 (C-13), 33.6 (C-8), 34.4 (C-2), 64.8 (C-6'), 70.4 (C-4'), 71.8 (C- 25 5'), 73.8 (C-2'), 74.9 (C-3'), 93.8 (C-1'), 126.8 (C-11) 129.7 (C-10), 130.2 (C-9), 131.6 (C-12), 174.8 (C-1).

**Beispiel 2:** CLA + Alkylpolyglykosid (APG)**6-O-cis-9,trans-11-Octadecadienoyl-alkylglucosid**

30 2g APG (Henkel KGaA), 15g Edenor UKD6010, 4.5 g Molekularsieb, 10 ml t-Butanol und 4.5 g immobilisierte Lipase B aus *Candida antarctica* wurden 48 Stunden bei 60 °C mit 100 rpm am Magnetprüher im 250 ml Erlenmeyerkolben inkubiert. Die Umsetzung wurde mittels Dünnschichtchromatographie (Kieselgel 60-Platten mit Fluoreszenzindikator; Laufmittel: Ethylacetat 100 %, Visualisierung: UV-Detektion sowie

mittels Essigsäure/Schwefelsäure/Anisaldehyd-Tauchreagenz (100:2:1 v/v/v)). Das Produkt wurde über eine wäßrige Zweiphasen-Extraktion in der Hexanphase angereichert, einrotiert und über Säulenchromatographie (Kieselgel F60; Laufmittel Ethylacetat/Methanol (10:1, v/v)) gereinigt.

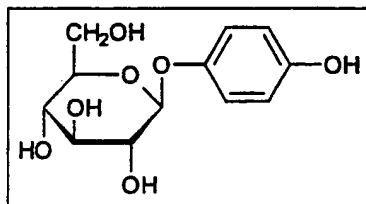
5



$R_f$ -Wert: 0.74 (Ethylacetat/Methanol 10:1)

10 **Beispiel 3:** Stearidonsäureethylester + Arbutin

Arbutin



**6,9,12,15-Octadecatetraenoyl (6Z,9Z,12Z,15Z)-Arbutin**

- 15 1.36 g (5 mmol) Arbutin, 40 g Stearidonsäureethylester, 4.5 g Molekularsieb, 10 ml t-Butanol und 4.5 g immobilisierte Lipase B aus *Candida antarctica* wurden 48 Stunden bei 60 °C mit 100 rpm am Magnetrührer im 300 ml Erlenmeyerkolben inkubiert. Die Umsetzung wurde mittels Dünnschichtchromatographie (Kieselgel 60-Platten mit Fluoreszenzindikator; Laufmittel: Ethylacetat 100 %, Visualisierung: UV-Detektion sowie
- 20 mittels Essigsäure/Schwefelsäure/Anis-aldehyd-Tauchreagenz (100:2:1, v/v/v)) nachgewiesen. Das Produkt wurde über Säulenchroma-tographie (Kieselgel F60; Laufmittel: Ethylacetat/2-Propanol 10:1, v/v) gereinigt.

$R_f$ -Wert: 0.35 (Ethylacetat 100 %)

## Patentansprüche

- 5 1. Verbindungen der allgemeinen Formel (I):



worin R einen Wasserstoff-, einen über eine Etherbrücke an den Zucker gebundenen verzweigten oder geradkettigen C<sub>8</sub>-C<sub>20</sub>-Alkyl-, einen Arylalkyl- oder einen substituierten oder unsubstituierten C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Arylrest darstellt,

- 10 worin Z (Zucker) für ein Mono-, Disaccharid oder Polysaccharid steht, das n-fach esterartig mit Ac substituiert und, wenn R nicht für Wasserstoff steht, acetalisch an den Rest R gebunden ist,

worin Ac einen mehrfach ungesättigten C<sub>15</sub> - C<sub>25</sub>-Acylrest mit mindestens 4 isolierten und/oder mindestens zwei konjugierten Doppelbindungen oder einen  
15 arylaliphatischen Rest mit 1-4 Methylengruppen zwischen Ester-Gruppe und aromatischem Ring darstellt,

worin m eine ganze Zahl (1, 2, 3, ...) einschließlich 0 ist,

worin n eine ganze Zahl (1, 2, 3, ...), nicht aber 0, ist,

- 20 mit der Maßgabe, daß Z-O-R<sub>m</sub> nicht für Salicin, das ist 2-Hydroxymethyl-phenyl)-β-glucopyranosid, steht.

2. Die Verbindungen von Anspruch 1, wobei Z ein Monosaccharid, insbesondere D-Glucose, D-Galactose, D-Xylose, D-Apiose, L-Rhamnose, L-Arabinose und Rutinose, ist.

25

3. Die Verbindungen von Anspruch 1 oder 2, wobei der Glykosid-Anteil (Z-O-R<sub>m</sub>) ein solcher ist, der als Zuckerbestandteil ein Monosaccharid, insbesondere ein Monosaccharid gemäß Anspruch 2, enthaltende Verbindungen, insbesondere Arbutin, Fragilin und Populin.

30

4. Die Verbindungen von Anspruch 1 oder 2, wobei der Glykosid-Anteil (Z-O-R<sub>m</sub>) ein solcher ist, der als Zuckerbestandteil ein Oligo- oder Polysaccharid wie Alkylpolyglucoside, speziell APG (Henkel KGaA), ist.



5. Die Verbindungen von einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Bindung von Ac an den Zucker über eine primäre Alkoholgruppe des Zuckers erfolgt.

6. Die Verbindungen von einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Glykosid-Anteil (Z-O-R<sub>m</sub>) Arbutin, Populin oder Fragilin ist.

7. Die Verbindungen von einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei Ac der Acylrest einer der folgenden Fettsäuren ist: eine CLA oder Stearidonsäure, insbesondere die Octadecadiensäuren, die über konjugierte Doppelbindungen an den C-Atomen 9 und 11, 10 und 12 oder 11 und 13 verfügen, insbesondere die cis, trans, 9, 11- und die cis, cis, 9, 11-Octadecadiensäure.

8. Die Verbindungen von einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Glykosid-Anteil (Z-O-R<sub>m</sub>) Arbutin (d.h. m = 1), wobei Ac der Acylrest der cis, trans, 9, 11- oder der cis, cis, 9, 11-Octadecadiensäure und wobei n 1 ist.

9. Die Verbindungen von einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei der Glykosid-Anteil (Z-O-R<sub>m</sub>) Fragulin (d.h. m = 1), wobei Ac der Acylrest der cis, trans, 9, 11- oder der cis, cis, 9, 11-Octadecadiensäure und wobei n 1 ist.

10. Die Verbindungen von einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei der Glykosid-Anteil (Z-O-R<sub>m</sub>) Arbutin (d.h. m = 1), wobei Ac der Acylrest der cis, trans, 9, 11- oder der cis, cis, 9, 11-Octadecadiensäure und wobei n 2 ist.

11. Die Verbindungen von einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei der Glykosid-Anteil (Z-O-R<sub>m</sub>) Fragulin (d.h. m = 1), wobei Ac der Acylrest der cis, trans, 9, 11- oder der cis, cis, 9, 11-Octadecadiensäure und wobei n 2 ist.

12. Die Verbindungen von einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei der Glykosid-Anteil (Z-O-R<sub>m</sub>) Arbutin oder Fragilin (d.h. m = 1), wobei Ac der Acylrest der Stearidonsäure und wobei n 1 ist.

13. Die Verbindungen von einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei der Glykosid-Anteil (Z-O-R<sub>m</sub>) Arbutin oder Fragulin (d.h. m = 1), wobei Ac der Acylrest der Stearidonsäure und wobei n 2 ist.
- 5 14. Die Verbindungen von einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei, wenn n = 1, der einzige Rest Ac an eine primäre OH-Gruppe des Zuckers gebunden ist, insbesondere an diejenige primäre OH-Gruppe, die an der Zuckereinheit sitzt, an den auch R gebunden ist, wenn m ≠ 0, und wobei, wenn n = 2, ein Rest Ac an diejenige primäre OH-Gruppe, die an der Zuckereinheit sitzt, an den auch R gebunden ist, 10 wenn m ≠ 0, und der andere Rest Ac an eine weitere primäre oder an eine sekundäre OH-Gruppe des Zuckers gebunden ist.
15. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der Formel (I) von einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß ein Zucker Z bzw. ein 15 Glykosid Z-O-R<sub>m</sub> mit einer ungesättigten Fettsäure AcOH oder mit einem Ester, vorzugsweise einem Methyl- oder Ethylester, dieser Fettsäuren AcOH in Gegenwart einer Hydrolase verestert oder umgeestert wird.
- 20 16. Das Verfahren von Anspruch 15, wobei die Hydrolase eine Lipase, insbesondere eine Lipase aus *Candida rugosa* (ehemals *Candida cylindracea*), *Candida antarctica*, *Geotrichum candidum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium roqueforti*, *Rhizopus arrhizus* und *Mucor miehei*, insbesondere die Lipase (Isoenzym B) aus *Candida antarctica*, ist.
- 25 17. Das Verfahren von Anspruch 15 oder 16, wobei sich an die Veresterungsreaktion ein Schritt zur Aufreinigung der Verbindungen der Formel (I) anschließt, der entweder ein wäßriges Zweiphasen-Extraktionsverfahren mit organischen Lösungsmitteln wie n-Hexan, Cyclohexan, THF oder Diethylether oder ein chromatographisches Verfahren an Kieselgel, vorzugsweise mit Ethylacetat/Methanol- oder 30 Dichlormethan/Methanol-Gemischen mit geringen Anteilen Essigsäure und/oder Wasser, ist.

18. Kosmetische oder pharmazeutische Zusammensetzung oder Nahrungs- bzw. Nahrungsergänzungs- oder Futtermittel-Zusammensetzung, enthaltend mindestens eine der Verbindungen von einem der Ansprüche 1 bis 14.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 01/04153

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 C07H13/06 C07H15/04 A61K31/70 A23L1/09 A23L1/29  
C12P19/02 C12P19/44

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 C07H A61K A23L C12P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, CHEM ABS Data, WPI Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X,Y        | FRANGULYAN G A ET AL: "Synthesis and isolation of monoesters of sucrose and arachidonic acid"<br>CHEMISTRY OF NATURAL COMPOUNDS, CONSULTANTS BUREAU, NEW YORK, NY, US, vol. 24, no. 4, 1988, pages 421-424, XP002100387<br>ISSN: 0009-3130<br>the whole document | 1-18                  |
| X,Y        | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN<br>vol. 1995, no. 01,<br>28 February 1995 (1995-02-28)<br>& JP 06 293789 A (TEIJIN LTD),<br>21 October 1994 (1994-10-21)<br>abstract   | 1-18                  |

-/-

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*G\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 September 2001

Date of mailing of the international search report

12/09/2001

Name and mailing address of the ISA  
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bardili, W

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No

PCT/EP 01/04153

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X,Y        | EP 0 392 798 A (NABISCO BRANDS INC)<br>17 October 1990 (1990-10-17)<br>the whole document  | 1-18                  |
| X,Y        | WO 98 52556 A (MANKU MEHAR SINGH ; SCOTIA HOLDINGS PLC (GB); MCMORDIE AUSTIN (GB);)<br>26 November 1998 (1998-11-26)<br>page 5 -page 6   | 1-18                  |
| X,P        | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN<br>vol. 2000, no. 12,<br>3 January 2001 (2001-01-03)<br>& JP 2000 247965 A (SNOW BRAND MILK PROD CO LTD), 12 September 2000 (2000-09-12)<br>abstract | 1-18                  |
| X,Y        | FR 2 780 976 A (THOREL JEAN NOEL)<br>14 January 2000 (2000-01-14)<br>page 5; claim 11  | 1-18                  |
| X,Y        | WO 99 24009 A (LVMH RECH ; BONTE FREDERIC (FR); DUMAS MARC (FR))<br>20 May 1999 (1999-05-20)<br>claims 7,8   | 1-18                  |
| X,Y        | FR 2 646 439 A (GATTEFOSSE ETS SA)<br>2 November 1990 (1990-11-02)<br>the whole document   | 1-18                  |
| Y          | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN<br>vol. 013, no. 472 (C-647),<br>25 October 1989 (1989-10-25)<br>& JP 01 186811 A (SUNSTAR INC),<br>26 July 1989 (1989-07-26)<br>abstract            | 1-18                  |
| Y          | WO 99 32105 A (DCV INC)<br>1 July 1999 (1999-07-01)<br>the whole document  | 1-18                  |
| Y          | WO 97 35487 A (GIST BROCADES BV ; DEN BURG ANTHONIUS CORNELIS VA (NL); GROENENDAAL)<br>2 October 1997 (1997-10-02)<br>the whole document                                       | 1-18                  |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 01/04153

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s)                                      | Publication<br>date                                  |
|---|---------------------|---|--|
| JP 06293789 A                             | 21-10-1994          | NONE  |  |
| EP 0392798 A                              | 17-10-1990          | CA 2012707 A<br>JP 3201965 A<br>US 5837300 A                    | 11-10-1990<br>03-09-1991<br>17-11-1998               |
| WO 9852556 A                              | 26-11-1998          | AU 7442398 A<br>EP 0977561 A<br>ZA 9804211 A                    | 11-12-1998<br>09-02-2000<br>20-11-1998               |
| JP 2000247965 A                           | 12-09-2000          | NONE  |  |
| FR 2780976 A                              | 14-01-2000          | NONE  |  |
| WO 9924009 A                              | 20-05-1999          | FR 2770776 A<br>EP 1028705 A                                    | 14-05-1999<br>23-08-2000                             |
| FR 2646439 A                              | 02-11-1990          | NONE  |  |
| JP 01186811 5 A                           |                     | NONE  |  |
| WO 9932105 A                              | 01-07-1999          | AU 2091099 A<br>EP 1041979 A<br>US 6136985 A                    | 12-07-1999<br>11-10-2000<br>24-10-2000               |
| WO 9735487 A                              | 02-10-1997          | AU 2290197 A<br>EP 0893953 A<br>JP 2000508523 T<br>US 6048557 A | 17-10-1997<br>03-02-1999<br>11-07-2000<br>11-04-2000 |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Aktenzeichen

PCT/EP 01/04153

|   |   |   |
|---|---|---|
| <b>A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES</b><br>IPK 7 C07H13/06 C07H15/04 A61K31/70 A23L1/09 A23L1/29<br>C12P19/02 C12P19/44  |   |   |
| Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK   |   |   |
| <b>B. RECHERCHIERTE GEBIETE</b><br>Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)<br>IPK 7 C07H A61K A23L C12P  |   |   |
| Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen  |   |   |
| Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)<br>EPO-Internal, PAJ, CHEM ABS Data, WPI Data   |   |   |
| <b>C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN</b>  |   |   |
| Kategorie*  | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile  | Betr. Anspruch Nr.                                  |
| X,Y   | FRANGULYAN G A ET AL: "Synthesis and isolation of monoesters of sucrose and arachidonic acid"<br>CHEMISTRY OF NATURAL COMPOUNDS,<br>CONSULTANTS BUREAU, NEW YORK, NY, US,<br>Bd. 24, Nr. 4, 1988, Seiten 421-424,<br>XP002100387<br>ISSN: 0009-3130<br>das ganze Dokument | 1-18  |
| X,Y   | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN<br>vol. 1995, no. 01,<br>28. Februar 1995 (1995-02-28)<br>& JP 06 293789 A (TEIJIN LTD),<br>21. Oktober 1994 (1994-10-21)<br>Zusammenfassung  | 1-18  |
| -/--  |   |   |
| <input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie  |   |   |
| * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen<br>*A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist<br>*E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist<br>*L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)<br>*O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht<br>*P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist<br>*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist<br>** Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden<br>** Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist<br>*g* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist |   |   |
| Datum des Abschlusses der internationalen Recherche   |   | Absendedatum des internationalen Recherchenberichts |
| 5. September 2001   |   | 12/09/2001  |
| Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde<br>Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,<br>Fax: (+31-70) 340-3016   |   | Bevollmächtigter Bediensteter<br>Bardili, W         |

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Aktenzeichen  
PCT/EP 01/04153

| C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN |  |                    |
|--|--|--------------------|
| Kategorie*   | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile   | Betr. Anspruch Nr. |
| X,Y  | EP 0 392 798 A (NABISCO BRANDS INC)<br>17. Oktober 1990 (1990-10-17)<br>das ganze Dokument   | 1-18               |
| X,Y  | WO 98 52556 A (MANKU MEHAR SINGH ;SCOTIA HOLDINGS PLC (GB); MCMORDIE AUSTIN (GB);)<br>26. November 1998 (1998-11-26)<br>Seite 5 -Seite 6   | 1-18               |
| X,P  | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN<br>vol. 2000, no. 12,<br>3. Januar 2001 (2001-01-03)<br>& JP 2000 247965 A (SNOW BRAND MILK PROD CO LTD), 12. September 2000 (2000-09-12)<br>Zusammenfassung | 1-18               |
| X,Y  | FR 2 780 976 A (THOREL JEAN NOEL)<br>14. Januar 2000 (2000-01-14)<br>Seite 5; Anspruch 11  | 1-18               |
| X,Y  | WO 99 24009 A (LVMH RECH ;BONTE FREDERIC (FR); DUMAS MARC (FR))<br>20. Mai 1999 (1999-05-20)<br>Ansprüche 7,8  | 1-18               |
| X,Y  | FR 2 646 439 A (GATTEFOSSE ETS SA)<br>2. November 1990 (1990-11-02)<br>das ganze Dokument  | 1-18               |
| Y  | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN<br>vol. 013, no. 472 (C-647),<br>25. Oktober 1989 (1989-10-25)<br>& JP 01 186811 A (SUNSTAR INC),<br>26. Juli 1989 (1989-07-26)<br>Zusammenfassung           | 1-18               |
| Y  | WO 99 32105 A (DCV INC)<br>1. Juli 1999 (1999-07-01)<br>das ganze Dokument   | 1-18               |
| Y  | WO 97 35487 A (GIST BROCADES BV ;DEN BURG ANTHONIUS CORNELIS VA (NL); GROENENDAAL)<br>2. Oktober 1997 (1997-10-02)<br>das ganze Dokument   | 1-18               |



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. ales Aktenzeichen  
PCT/EP 01/04153

| Im Recherchenbericht<br>angeführtes Patentdokument | Datum der<br>Veröffentlichung | Mitglied(er) der<br>Patentfamilie                               | Datum der<br>Veröffentlichung                        |
|--|-------------------------------|---|--|
| JP 06293789 A                                      | 21-10-1994                    | KEINE   |  |
| EP 0392798 A                                       | 17-10-1990                    | CA 2012707 A<br>JP 3201965 A<br>US 5837300 A                    | 11-10-1990<br>03-09-1991<br>17-11-1998               |
| WO 9852556 A                                       | 26-11-1998                    | AU 7442398 A<br>EP 0977561 A<br>ZA 9804211 A                    | 11-12-1998<br>09-02-2000<br>20-11-1998               |
| JP 2000247965 A                                    | 12-09-2000                    | KEINE   |  |
| FR 2780976 A                                       | 14-01-2000                    | KEINE   |  |
| WO 9924009 A                                       | 20-05-1999                    | FR 2770776 A<br>EP 1028705 A                                    | 14-05-1999<br>23-08-2000                             |
| FR 2646439 A                                       | 02-11-1990                    | KEINE   |  |
| JP 01186811 5 A                                    |                               | KEINE   |  |
| WO 9932105 A                                       | 01-07-1999                    | AU 2091099 A<br>EP 1041979 A<br>US 6136985 A                    | 12-07-1999<br>11-10-2000<br>24-10-2000               |
| WO 9735487 A                                       | 02-10-1997                    | AU 2290197 A<br>EP 0893953 A<br>JP 2000508523 T<br>US 6048557 A | 17-10-1997<br>03-02-1999<br>11-07-2000<br>11-04-2000 |

THIS PAGE BLANK (cont.)